

С. С. Терехин, И. А. Тихомирова

**Оценка микроциркуляции у лиц с разным уровнем резерва кровотока методом лазерной доплеровской флоуметрии и витальной биомикроскопии**

*Работа выполнена в рамках реализации Федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 годы.*

В исследовании проводилось сравнение микроциркуляции двух групп практически здоровых людей с разным уровнем резерва кровотока. Осуществляли измерение при помощи ЛДФ и витальной биомикроскопии. Показано, что снижение резервных возможностей микрокровоотока у лиц в группе с более низким резервом кровотока обусловлено сниженной эффективностью микроциркуляции вследствие явлений стаза и застоя крови в венах.

**Ключевые слова:** резерв кровотока, микроциркуляция, метод ЛДФ, метод ВВС, артериоло-венулярное соотношение, окклюзионная проба.

S. S. Terekhin, I. A. Tikhomirova

**Method of Laser Doppler Flowmetry and Vital Biomicroscopy to Estimate Microcirculation in Persons with Different Blood Flow Reserve**

In the study comparison of microcirculation was carried out in two groups of healthy persons with different blood flow reserve. Measurements were done by means of Laser Doppler flowmetry (LDF) and the biomicroscopy method (VBS). It was shown that the decrease of the blood flow reserve capacity in a group with lower flow reserve was determined by a decrease of microcirculation efficiency because of the stasis and stagnation of blood in the venules.

**Keywords:** flow reserve, microcirculation, Laser Doppler flowmetry, biomicroscopy, arteriolar-venular ratio, occlusion test.

**Введение**

Благодаря современным техническим достижениям, связанным с внедрением в практику исследований компьютерных и спектроскопических технологий, стало возможным применение современных методов исследования микроциркуляции для решения практических задач. Среди этих методов лазерная доплеровская флоуметрия (ЛДФ) и компьютерная видеомикроскопия сосудов конъюнктивы глазного яблока и слизистой оболочки полости рта, а также капилляров ногтевого валика и других областей кожного покрова занимают определенное место, поскольку объекты наблюдения доступны и достаточно информативны при оценке как локального, так и системного состояния микроциркуляции [4]. Каждый из этих методов имеет свои достоинства и недостатки.

**Целью** настоящего исследования являлось изучение методом лазерной доплеровской флоуметрии и витальной биомикроскопии микро-

циркуляции у лиц с разным уровнем резерва кровотока.

**Материалы и методы**

В исследовании принимали участие практически здоровые добровольцы обоего пола в возрасте от 19 до 23 лет (n=14) после получения устного информированного согласия.

*Метод лазерной доплеровской флоуметрии* основан на зондировании ткани лазерным излучением. Обработка отраженного от ткани излучения основана на выделении из зарегистрированного сигнала доплеровского сдвига частоты отраженного сигнала, пропорционального скорости движения эритроцитов. На выходе прибора формируется результат флоуметрии, то есть сигнал, амплитуда которого пропорциональна скорости и количеству эритроцитов, – **показатель перфузии**, определяющий динамическую характеристику микроциркуляции крови – изменение потока крови (перфузии ткани кровью) в единицу времени в зондируемом объеме.

Результат флоуметрии может быть представлен следующим выражением:  $ПМ = K \cdot N_{эр} \cdot V_{ср}$ , где **ПМ** – показатель микроциркуляции (амплитуда сигнала в вольтах); **K** – коэффициент пропорциональности ( $K = 1$ );  $N_{эр}$  – количество эритроцитов;  $V_{ср}$  – средняя скорость эритроцитов в зондируемом объеме.

ЛДФ-сигнал имеет постоянную и переменную от времени составляющие, поэтому показатель микроциркуляции (перфузии) можно выразить следующей формулой:  $ПМ(t) = M + \delta ПМ$ , где  $M$  – постоянная составляющая перфузии и  $\delta ПМ(t)$  – переменная составляющая перфузии. *Постоянная составляющая  $M$*  – это средняя перфузия в микроциркуляторном русле за определенный промежуток времени исследований или за выбранный временной интервал анализа ЛДФ-граммы. *Переменная составляющая* ЛДФ-сигнала  $\delta ПМ(t)$  обусловлена факторами, влияющими на постоянство потока крови в микроциркуляторном русле, то есть связана с обстоятельствами, изменяющими величину скорости  $V_{ср}$  и концентрацию  $N_{эр}$  эритроцитов.

Таким образом, в неинвазивном методе ЛДФ результирующий параметр определяет динамическую характеристику микроциркуляции крови – изменение потока крови (перфузии ткани кровью) в единицу времени в зондируемом объеме [5]. Кроме показателя микроциркуляции, нами оценивались также такие параметры, как объемное кровенаполнение ткани (параметр  $V_t$ ) и среднее относительное насыщение кислородом крови микроциркуляторного русла биоткани (параметр  $SO_2$ ). Параметр  $V_t$  является интегральным, поскольку несет одновременно информацию и о среднем содержании гемоглобина в эритроцитах испытуемого, и о его гематокрите, соотношенных с общим объемом биоткани. Параметр  $SO_2$  также является интегральным, соотношенным с общим объемом биоткани, в большей мере характеризует венолярное содержание кислорода, то есть позволяет косвенно оценивать потребление кислорода тканями. Параметр  $M$  дает общую оценку состояния микроциркуляции крови. Более детальный анализ функционирования микроциркуляторного русла может быть проведен на втором этапе обработки ЛДФ-грамм базального кровотока при исследовании структуры ритмов колебаний перфузии крови. На этом этапе анализируется амплитудно-частотный спектр (АЧС) колебаний перфузии. По величинам амплитуд колебаний микроциркуляторного русла в конкретных частотных диапазонах при помощи вейвлет-преобразования оценивали

состояние функционирования определенных механизмов контроля перфузии. Расчеты проводились автоматически при помощи программного обеспечения.

Среди звеньев регуляции микроциркуляции выделяют «пассивные» и «активные» механизмы, которые в полосе частот от 0,005 Гц до 3 Гц формируют пять неперекрывающихся частотных диапазонов: диапазон эндотелиальной, нейрогенной и миогенной активности, респираторного и кардиального ритмов [1, 2]. Регистрируемый в ЛДФ-грамме колебательный процесс является результатом наложения колебаний, обусловленных функционированием «активных» и «пассивных» механизмов.

При ЛДФ-исследованиях системы гемомикроциркуляции кожи в клинике для выявления адаптационных резервов системы микроциркуляции, оценки состояния механизмов регуляции тканевого кровотока, а также общего функционального состояния микроциркуляторного русла применяют функциональные пробы. В нашей работе мы использовали окклюзионную пробу. При проведении окклюзионной пробы оценивается показатель микроциркуляции в отсутствие артериального притока, и изучаются резервные возможности микроциркуляторного русла по приросту показателя микроциркуляции во время реактивной постокклюзионной гиперемии [5].

Окклюзионная проба реализуется путем пережатия на 1–3 мин. соответствующего участка конечности манжетой тонометра таким образом, чтобы вызвать остановку кровотока и, соответственно, ишемию в исследуемой области. После прекращения окклюзии кровотока восстанавливается, и развивается реактивная постокклюзионная гиперемия, которая проявляется в повышении показателя микроциркуляции до величины, превосходящей исходный уровень показателя микроциркуляции (ПМ) с последующим спадом до исходного уровня.

При исследовании испытуемые находятся в положении сидя (предплечье – на уровне сердца), ЛДФ-зонд фиксируется над выбранной точкой. В нашем случае зондируемой областью являлась подушечка III пальца правой руки.

Манжета тонометра фиксируется на соответствующем плече. Проба проводится по следующей схеме: 1-я минута – регистрация исходного уровня кровотока, затем, не прерывая записи, 3-минутная окклюзия (в манжете быстро нагнетается и поддерживается давление 220–250 мм рт. ст.), по истечении которой воздух из манжеты быстро выпускается, и последующие 6 минут регистрируется реакция показателей микроциркуляции (ПМ) в хо-

де восстановления кровотока. В процессе проведения окклюзионной пробы фиксировали следующие параметры:  $M_{исх}$  – среднее значение показателя микроциркуляции в перфузионных единицах (перф. ед.) до окклюзии;  $M_{окл}$  – показатель микроциркуляции в процессе окклюзии. Этот показатель характеризует уровень «биологического нуля» кровотока в отсутствие артериального притока,  $PM_{макс}$  – максимальное значение ПМ в процессе развития реактивной постокклюзионной гиперемии; РК – резерв кровотока, рассчитывается как отношение  $PM_{макс}$  к  $M_{исх}$  и выражается в процентах. В группе здоровых лиц РК составляет больше 200 %.

*Метод витальной биомикроскопии:* установка включала в себя микроскоп с цифровым окуляром (модель DCM510), подключенный к персональному компьютеру. У испытуемых производили фоторегистрацию сосудов ногтевого валика III пальца правой руки (1 – в состоянии покоя, 2 – во время окклюзионной пробы, 3 – после окклюзионной пробы). Анализ полученных изображений производили в программе Photoshop CS: измеряли диаметры параллельно идущих артериол и венул с последующим расчетом артериоло-венулярного соотношения по формуле:

$$ABC=DA/DB,$$

где DA – диаметр артериолы, DB – диаметр венулы.

Показатели центральной гемодинамики, такие как артериальное давление и частоту сердечных сокращений, измеряли по стандартным методикам. Для оценки ударного объема (УО) использовали формулу Старра [3]:

$$OU=10+0,5CD-1,09DD-0,61B,$$

где CD – величина систолического давления; DD – величина диастолического давления. Для расчета *редуцированного артериального давления*

(РАД) использовали формулу Лильештранда и Цандера [3]:

$$РАД=100ПД/СрД,$$

где ПД – пульсовое давление; СрД – среднее давление. Минутный объем рассчитывали по формуле:

$$MO=РАД \times ЧСС,$$

где РАД – редуцированное артериальное давление; ЧСС – частота сердечных сокращений. *Коэффициент эффективности кровообращения (КЭК)* рассчитывали по формуле:

$$КЭК=ЧСС/сисАД,$$

где ЧСС – частота сердечных сокращений; сисАД – систолическое артериальное давление.

### Результаты и обсуждение

Исследуемая группа была разбита на 2 подгруппы в зависимости от показателей резерва кровотока (РК), полученных при окклюзионной пробе. В первую группу были включены лица с относительно низким РК (114 %), во второй – резервные возможности кровотока были почти вдвое выше: РК=242 %.

При рассмотрении параметров центральной гемодинамики и показателей микроциркуляции было зафиксировано, что у лиц с более высоким РК объемная составляющая капиллярного кровотока была на 34 % выше, а артериоло-венулярное соотношение – на 15 % ниже, чем в первой группе. В механизмах регуляции микрокровотока также были отмечены различия: в группе с более высоким РК максимальная амплитуда осцилляций дыхательного происхождения была на 59 % выше, чем в первой группе.

Показатели центральной гемодинамики при этом не имели достоверных отличий в исследуемых группах (табл. 1).

Таблица 1

Показатели микроциркуляции и центральной гемодинамики в состоянии покоя

Показатели	I группа	II группа	Разница %	P
Показатель перфузии, пф. ед.	17,3±6,55	23,8±9,27	27,4	0,073
Показатель сатурации, пф. ед.	42,9±14,1	55,4±14,7	22,4	0,068
Объем кровотока, пф. ед.	10,4±4,4	15,8±4,3	33,6*	0,022
Амах эндотелиального ритма, отн. ед.	1,28±0,89	1,80±2,34	29,0	0,299
Амах нейрогенного ритма, отн. ед.	1,46±1,37	2,75±2,69	16,4	0,354
Амах миогенного ритма, отн. ед.	1,46±1,37	2,02±1,74	27,9	0,254
Амах дыхательного ритма, отн. ед.	0,45±0,25	0,86±0,03	59,2*	0,032
Амах колебаний сердечной природы, отн. ед.	0,40±0,20	0,51±0,36	22,3	0,232

Коэффициент эффективности кровообращения отн. ед.	0,67±0,07	0,65±0,13	4,14	0,140
Ударный объем, мл	74±6	69,7±6,4	6,31	0,092
Минутный объем, отн. ед.	0,71±0,14	0,67±0,19	6,44	0,303
РАД, отн. ед.	54,2±8,02	47,6±11,3	12,1	0,113
Резерв кровотока, %	114±24	242±117	52,8*	0,012
АВС в покое, отн. ед.	0,786±0,101	0,669±0,095	14,8*	0,024
ЧСС, уд/мин.	77,5±10,5	72,6±10,1	6,24	0,202

**Обозначение:** пф. ед. – перфузионные единицы; Амах – максимальная амплитуда колебаний; АВС – артериоло-венулярное соотношение; РАД – редуцированное артериальное давление.

При оценке резервных возможностей микроциркуляции в условиях компрессионной пробы было установлено, что исходный уровень перфузии был на 52 % выше в группе с более высоким РК (табл. 2).

Таблица 2

Показатели микроциркуляции во время окклюзионной пробы

Показатели	I группа	II группа	Разница %	P
Исходный показатель перфузии, пф. ед.	14,25±6,94	29,8±0,46	52,2*	0,002
Минимальный показатель перфузии, пф. ед.	12,78±12,36	3,78±0,31	27,5	0,319
Максимальный показатель перфузии, пф. ед.	29,4±9,6	33,9±13,0	13,2	0,235
АВС при пробе, отн. ед.	0,82±0,08	0,66±0,13	18,4*	0,085
Изменение перфузии	8,33±4,94	20,02±10,07	58,4*	0,010

**Обозначение:** пф. ед. – перфузионные единицы, АВС – артериоло-венулярное соотношение.

Изменение перфузии при этом также было на 59 % выше во второй группе, что может свидетельствовать либо об увеличении притока крови в микроциркуляторное русло за счет роста числа функционирующих капилляров, либо о застое крови в венах.

### Выводы

Учитывая, что в группе с РК=114 % показатель микроциркуляции в отсутствие артериального притока был на 28 % выше, а артериоло-венулярное соотношение (по данным биомикроскопии) на 18 % ( $p<0,05$ ) ниже, чем в группе с более высоким резервом кровотока, можно заключить, что наблюдаемое снижение резервных возможностей микроциркуляции в этой группе обусловлено сниженной эффективностью микроциркуляции вследствие явлений стаза и застоя крови в венах.

Использование метода ЛДФ дает возможность оценить вклад различных механизмов в регуляцию кровообращения, а применение мето-

да ВВС позволяет в разных условиях (в состоянии покоя, во время пробы или в период восстановления) измерить диаметр артериол и венул и, следовательно, артериоло-венулярное соотношение. Таким образом, комплексное исследование состояния микроциркуляции методами лазерной доплеровской флоуметрии и витальной биомикроскопии с использованием окклюзионной пробы позволяет наиболее полно оценить резервные возможности микроциркуляторного русла и причины их изменения. Полученные данные свидетельствуют о важном вкладе периферического кровообращения в обеспечение функциональных возможностей организма человека. Однако при использовании такой пары методов при исследовании разновозрастных групп следует учитывать, что возрастные изменения в большей мере затрагивают трансформации структуры сосудов (то есть показатели, измеряемые при помощи метода ВВС), чем механизмы регуляции микроциркуляции (то есть показатели, измеряемые методом ЛДФ) [6, 7].

**Библиографический список**

1. Айдаралиев, А. А. Использование теста тепловой чувствительности для оценки функционального состояния [Текст] / А. А. Айдаралиев, Г. П. Кузнецова, А. Л. Максимов // Физиология человека. – 1992. – Т. 18, № 2 – С. 89–92.
2. Айзерман, М. А. Теория автоматического регулирования [Текст] / М. А. Айзерман. – 3-е изд., перераб. и доп. – М. : Наука, 1966. – 452 с.
3. Загрядский, В. П., Сулимо-Самуйло, З. К. Физическая нагрузка современного человека [Текст] / В. П. Загрядский, З. К. Сулимо-Самуйло. – Л. : Наука 1982. – 93 с.
4. Козлов, В. И. Микроциркуляция крови : оценка состояния и диагностика расстройств капиллярного кровотока [Текст] / В. И. Козлов // Тез. докладов V Всеросс. с междунар. участием школы-конференции, М., 2012. – 110 с.
5. Лазерная доплеровская флоуметрия микроциркуляции крови : руководство для врачей [Текст] / под ред. А. И. Крупаткина, В. В. Сидорова. – М. : Медицина, 2005. – 125 с.
6. Kelly R. I., Pearse R, Bull R. H., Leveque J. L., de Rigal J, Mortimer P. S. The effects of aging on the cutaneous microvasculature // Journal of the American Academy of Dermatology. – 1995. – № 33. – P. 749–756.
7. Li L., Mac-Mary S., Marsaut D., Sainthillier J.M., Nouveau S., Gharbi T., de Lacharriere O., Humbert P. Age-related changes in skin topography and microcirculation // Archives of Dermatological Research.– 2006.– № 297(9). – P. 412–416.